

日本産3種肺吸虫セルカリアの走査 電子顕微鏡的体表構造の比較

肥 後 広 夫 石 井 洋 一

(昭和58年2月7日 受領)

Key words: *Paragonimus*, cercaria, scanning electron microscopy

肺吸虫セルカリアの種別標徴については、光顕による炎細胞、体表毛の分布及び mucoid glands の比較形態学的な詳細な研究がある(Ameel, 1934; Yamaguti, 1943; Komiya and Ito, 1950; 扇田, 1954; 小宮ら, 1960; 横川ら, 1960; Kamo *et al.*, 1967; Miyazaki *et al.*, 1968). また、走査電子顕微鏡 (SEM) レベルでの研究としては、石井・宮崎 (1968) の佐渡肺吸虫及び著者ら (1980) によるウェステルマン肺吸虫の報告がある。特に後者は試料作製の改良により、皮棘及び感覚乳頭の微細形態に興味ある知見を得た。肺吸虫セルカリアの表面形態を SEM レベルで観察することは、比較形態学的重要さのみならず、第1中間宿主から第2中間宿主に移り被囊する過程を追究する上にも意義がある。また、ウェステルマン肺吸虫及び宮崎肺吸虫の第1中間宿主に寄生する Nanophyetidae 科の短尾セルカリア (Filimonova, 1963, 1964; Brendow, 1970; 齊藤ら, 1977; Hatsushika and Maejima, 1978) との比較という点からも興味深い。

本研究は、大平肺吸虫 (P.o), 小形大平肺吸虫 (P.i), 宮崎肺吸虫 (P.m) 各種セルカリアの表面形態を先に報告したウェステルマン肺吸虫 (P.w) のそれと SEM レベルで比較し、肺吸虫セルカリアの表面形態に特徴的な点とその機能について考察する。

材料と方法

P.o および P.i セルカリアは次のようにして得た。鹿児島県川内川河口及び奄美大島のクロベンケイに自然感染するメタセルカリアをラットに感染させて成虫を得、その子宮内虫卵を 27°C で約 2 週間培養してミラシ

ジウムを遊出させた。このミラシジウムをミヤイリガイ *Oncomelania nosophora* に感染させ、3~4カ月飼育した後自然遊出あるいは貝の破碎により成熟セルカリアを回収した。P.mセルカリアは、山口県岩国市六呂師のアキヨシホアアナミジンニナ *Bythinella (Moria) akiyoshiensis* に自然感染するものを用い、貝の破碎によりセルカリアを得た。

これらのセルカリアを、0.1%のNaHCO₃を含む1%パンクレアチンで37°C, 1~2時間よく洗浄した後、3%グルタルアルデヒド (Millonig's buffer pH 7.4) と1%オスミック酸 (同 buffer) で二重固定を行なった。その後アルコール系列により脱水し、臨界点乾燥後金スパッタコーティング処理をし JSM-U3 型 SEM を使用し、加速電圧 15kV で観察した。

結 果

P.o, P.i, P.m の各種セルカリアとも SEM による表面形態は、基本的に著者らが報告した P.w (肥後ら, 1980) のそれと同じである。体部は長楕円体で、3種とも長さが 90-130 μ m, 幅 40-50 μ m である。腹側前端部に口吸盤があり、中心よりやや後方に腹吸盤がある (Fig. 2)。体の後端部には直径約 10 μ m の球形あるいは楕円体の尾部が認められる (Figs. 1, 2, 11, 12)。

セルカリアの表面は皮棘で被われるが、体前端部と尾基部の2カ所は皮棘を欠く (Figs. 3, 4, 16)。この皮棘は体表の数カ所に群生する長さ 2 μ m 以上の大型の皮棘と、それ以外の部分にみられる小型の皮棘に分けられる。小型皮棘の大きさは、長さ 1.0 μ m 以下、基部の直径 0.5 μ m 以下であるが、大型皮棘の周囲では小型から大型に徐々に移行する。この小型皮棘は今回の3種が前報の

P.wよりわずかに大きく、形態的な差は認められない。大型皮棘は背側前部 (Figs. 3, 5), 口吸盤後部 (Figs. 6, 7, 8), 腹吸盤周辺部 (Figs. 9, 10), 腹側後部 (Figs. 11, 12, 13, 14, 15), 尾先端部 (Fig. 16) の5カ所に群生する。このうち口吸盤後部と腹側後部に群生する大型皮棘は、種による大きさの変異が著しい。この2カ所の大型皮棘の大きさを長さおよび基部の幅について比較したのが Table 1 である。P.o, P.i ではこれら皮棘の大きさはほぼ同じであるのに対し、P.w は著しく小さい。P.m はこの2つのグループの中間値をとる。また、腹側後部の大型皮棘は、P.o, P.i では比較的狭い範囲にまとまって群生するのに対し (Fig. 11), P.m, P.w は腹吸盤後部から尾部の周辺まで、広い範囲にわたって群生する (Fig. 12)。大型皮棘は腹側後部で種により形態が異なる。すなわち、P.o, P.i は太い棘状の傾向が強く (Figs. 13, 14), P.w は漏斗状で基部は太いが途中から先端にかけて急に細くなる。P.m は2つのグループの中間の形態を示す (Fig. 15)。腹吸盤周辺部の大型皮棘も顕著ではないが、同じ傾向を示す (Figs. 9, 10)。上記2カ所以外の大型皮棘は種間で差はなく棘状あるいは毛状である (Figs. 3, 5, 6, 7, 8, 16)。

SEM レベルにおける感覚器官の配列は、個体差があり必ずしも一定のパターンが得られない。しかし今回調べた3種及び著者ら (1980) が報告した P.w の感覚器官の基本的な配列パターンは同じと考えられる。すなわち配列は左右対称で、口吸盤の周囲に30—35対 (Fig. 4), 背側と側面に25—30対、口吸盤を除く腹側に約10対、それに尾部の背側に1個分布する (Fig. 16)。線毛を持たない乳頭が口吸盤の後部に1対 (Fig. 4), 腹吸盤の周囲に6個 (Fig. 20) 観察されるが、それ以外は

すべて線毛を持つ乳頭である。線毛を持つ感覚乳頭は、線毛の基部を取り囲む collar の有無、その下の外皮の膨隆の有無等により分けられる。肺吸虫セルカリアの場合、腹側のものはほとんどが collar を持ち (Fig. 17), 背側、側面では collar を持つものと持たないものがみられる (Fig. 19)。外皮の膨隆は口吸盤後部及び体の背側、側面の乳頭によく発達しているものがみられ (Figs. 17, 18, 19), また、口吸盤周辺部及びその後部、それに背側、側面前部には、長い線毛を持つ乳頭が多い (Figs. 17, 18, 19)。

口吸盤周辺部の乳頭には、線毛を取り囲む collar と線毛の間から細い線毛様の構造物が観察される (Fig. 18)。この構造物の大きさは長さ0.3—0.8 μ m, 直径約0.07 μ m である。これと同じものが口吸盤及び腹吸盤を取りまいて帯状に群生する (Figs. 4, 18)。その内側には小型皮棘が群生し、腹吸盤では帯状を呈する (Fig. 10)。

考 察

前報 (1980) 及び今回の SEM による観察から、肺吸虫セルカリアの体表には大型皮棘が5カ所、すなわち背側前部、口吸盤後部、腹吸盤周辺部、腹側後部及び尾先端部に群生することが明らかになった。さらに腹側後部の大型皮棘は種間で差がみられ、P.o, P.i の太い棘状の皮棘が尾部の約10 μ m 前方に集中して群生するのに対し、P.w の皮棘は P.o, P.i に比べて小さく基部以外は細く、これが尾部から腹吸盤の近くまで広い範囲にわたってみられる。P.m のこの部位の皮棘は両グループの中間の形態を示す。扇田 (1954) は光顕で P.o セルカリアを観察し、P.o の腹吸盤下部に密生する毛は P.w の軟らかく細い疎らな毛に比べて特徴的であるとしているが、これは SEM による腹側後部の大型皮棘の分

Table 1 Measurements of large-sized spines in posterior region of the oral sucker and posteroventral extremity of *Paragonimus westermani*, *P. miyazakii*, *P. ohirai* and *P. iloktsuenensis* cercariae. (in μ m)

		<i>P. westermani</i>	<i>P. miyazakii</i>	<i>P. ohirai</i>	<i>P. iloktsuenensis</i>
A	Length	3.0 -5.0	4.0 -7.0	4.5 -9.5	4.5 -7.0
	Width	0.20-0.30	0.25-0.35	0.30-0.50	0.40-0.50
B	Length	1.5 -3.0	3.0 -6.0	3.5 -8.0	3.0 -7.0
	Width	0.25-0.30	0.25-0.60	0.35-0.70	0.50-0.70

A : Posterior region of the oral sucker.

B : Posteroventral extremity.

布及び形態に一致する。皮棘の機能について Bibby and Rees (1971) は *Diplostomum phoxini* セルカリアを観察し、第2中間宿主への付着に関係するであろうと述べている。肺吸虫セルカリアにおいても著者ら (1980) が述べたように、分泌された粘液物質とともに新宿主への吸着あるいは宿主侵入後寄生部位への移動に関係していると考えられる。

住血吸虫セルカリアの感覚乳頭については、Short and Cartrett (1973), Sakamoto and Ishii (1978) らの報告により種間に明らかな差異が見出されている。しかし、今回までに調べた日本産肺吸虫セルカリアの感覚乳頭の配列は SEM レベルの観察で配列パターンに個体差が出てくるので、これを種別標徴の一つとするにはなお検討の必要がある。感覚乳頭の微細形態は P.w (肥後ら, 1980) と同じである。比較的長い線毛を持つ乳頭が体前部に多くみられる。これは Lo *et al.* (1975) が *Allopodocotyle lepomis* セルカリアで報告している長い線毛を持つ乳頭と似ており、Lo らが述べているように遊出の際 rheoreceptor として機能している可能性があり、Bibby and Rees (1971) も *D. phoxini* について同じ報告をしている。Page *et al.* (1980) は *Ribeiroia marini* セルカリアに5種の感覚乳頭を観察し、これらがほとんど口吸盤周辺部に集中していることから、新宿主に寄生する際に chemoreceptor, tangoreceptor として機能していると推測している。肺吸虫セルカリアの場合も、口吸盤周辺部の多くの乳頭が新宿主への転換の際に同じ機能を果していることが考えられる。

口吸盤周辺部の乳頭には、線毛を取り囲む collar と線毛の間から棒状突起物が出ているのがみられるが、これと同じものが口吸盤及び腹吸盤を帯状に群生して取り囲んでいる。この構造物は Kφie (1971), Lo *et al.* (1975) がそれぞれ *Zoogonoides viviparus* 及び *A. lepomis* セルカリアの口吸盤に認めている。肺吸虫では口吸盤、腹吸盤にみられ、その内側に小型皮棘がみられるが、これらがともに吸盤における吸着に関係すると思われる。

要 約

日本産肺吸虫3種 (P.o, P.i, P.m) セルカリアについて SEM による体表構造の観察を行ない、すでに報告されている P.w セルカリア (肥後ら, 1980) と比較検討を行なった。

体表は 2 μ m 以上の大型皮棘と 1 μ m 以下の小型皮棘で被われ、大型皮棘は背側前部、口吸盤後部、腹吸盤周辺部、腹側後部、尾先端部に群生する。腹側後

部の大型皮棘は大きさ、形態で種間に差異がみられ、P.o, P.i は P.w に比べて大きく、形は太い棘状あるいは棍棒状であるのに対し、P.w は小さく、基部をすぎると急に細くなる。P.m はこの2つのグループの中間の形態を示す。感覚乳頭は左右対称に配列し、特に口吸盤周辺部を中心とする体前端部に多くの乳頭が観察される。皮棘、乳頭の形態及び分布は腹側後部の大型皮棘を除いて4種間で基本的に同じである。一方、皮棘、乳頭の機能は宿主転換の際に重要な役割を果していると思われる。

謝 辞

稿を終るに当たり、クロベンケイをお送り下さった鹿児島大学医学部の福島英雄教授、ミヤイリガイを分与いただいた久留米大学医学部寄生虫学教室の塘普教授、ミヤイリガイの採集に便宜を計って下さった山梨県立衛生公害研究所地方病科の堀見利昌科長に深謝します。また、研究遂行に種々ご協力頂いた教室員各位に感謝致します。

文 献

- 1) Ameel, D. J. (1934): *Paragonimus*, its life history and distribution in North America and its taxonomy (Trematoda: Troglotrematidae). Amer. J. Hyg., 19, 279-317.
- 2) Bibby, M. C. and Rees, G. (1971): The ultrastructure of the epidermis and associated structures in the metacercaria cercaria and sporocyst of *Diplostomum phoxini* (Faust, 1918). Z. Parasitenkd., 37, 169-186.
- 3) Brendow, V. (1970): Ein Beitrag zur Trematodenfauna der Soricidae im Raume Giessen sowie im Naturpark Hoher Vogelsberg. Teil I. Z. Parasitenkd., 33, 282-313.
- 4) Filimonova, L. V. (1963): Life cycle of the trematode *Nanophyetus schikhobalowi*. Trudy gel'mint. Lab., 13, 347-357.
- 5) Filimonova, L. V. (1964): New first and second intermediate hosts of the trematode *Nanophyetus schikhobalowi*. Trudy gel'mint. Lab., 14, 246-251.
- 6) Hatsushika, R. and Maejima, J. (1978): Morphological characters of the trematode larvae similar to *Paragonimus* found in the snail, *Bythinella (Moria) nipponica* Mori, 1937 as the intermediate host of *Paragonimus miyazakii* Kamo *et al.*, 1961. Jap. J. Parasit., 27, 375-385.
- 7) 肥後広夫・藤野隆博・石井洋一(1980): ウェステルマン肺吸虫セルカリアの体表微細構造. 寄生虫誌, 29, 399-408.

- 8) 石井洋一・宮崎一郎 (1968) : 肺吸虫セルカリアの体表微細構造. 寄生虫誌, 17, 487-493.
- 9) Kamo, H., Hatsushika, R. and Maejima, J. (1967) : Studies on *Paragonimus miyazakii* Kamo, Nishida, Hatsushika et Tomimura, 1961. 1. Snail intermediate host and intra-snail stages. Yonago Acta Med., 11, 26-34.
- 10) Kóie, M. (1971) : On the histochemistry and ultrastructure of the tegument and associated structures of the cercaria of *Zoogonoides viviparus* in the first intermediate host. Ophelia, 9, 165-206.
- 11) Komiya, Y. and Ito, J. (1950) : Contribution to the morphology of *Paragonimus westermanii*. Jpn. Med. J., 3, 309-314.
- 12) 小宮義孝・吉田幸雄・富村 保(1960) : 怡楽村(小型大平)肺吸虫(*Paragonimus iloktsuenensis* Chen, 1940) 幼虫の排泄系統. 寄生虫誌, 9, 515-518.
- 13) Lo, S., Hall, J. E., Allender, P. A. and Klainer, A. S. (1975) : Scanning electron microscopy of an opecoelid cercaria and its encystment and encapsulation in an insect host. J. Parasitol., 61, 413-417.
- 14) Miyazaki, I., Kawashima, K., Hamajima, F. and Otsuru, M. (1968) : On a new lung fluke, *Paragonimus sadoensis* sp. nov. found in Japan (Trematoda: Troglotrematidae). Jap. J. Parasit., 17, 149-159.
- 15) 扇田和年 (1954) : 大平肺吸虫の第1中間宿主に関する研究(肺吸虫34). 医学研究, 24, 148-162.
- 16) Page, M. R., Nadakavukaren, M. J. and Huizinga, H. W. (1980) : *Ribeiroia marini* : Surface ultrastructure of redia, cercaria, and adult. Int. J. Parasitol., 10, 5-12.
- 17) 齊藤 奨・山下隆夫・大和田一雄(1977) : 盛岡市のカワニナから検出した短尾セルカリアについて. 寄生虫誌, 26(増), 48.
- 18) Sakamoto, K. and Ishii, Y. (1978) : Scanning electron microscope observations on miracidium, cercaria, and cercarial papillar patterns of *Schistosoma japonicum*. J. Parasitol., 64, 59-68.
- 19) Short, R. B. and Cartrett, M. L. (1973) : Argentophilic "papillae" of *Schistosoma mansoni* cercariae. J. Parasitol., 59, 1041-1059.
- 20) Yamaguti, S. (1943) : On the morphology of the larval forms of *Paragonimus westermanii*, with special reference to their excretory system. Jpn. J. Zool., 10, 461-469.
- 21) 横川宗雄・吉村裕之・小宮義孝(1960) : 大平肺吸虫(*Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939) の幼虫の形態について. 寄生虫誌, 9, 451-455.

Abstract

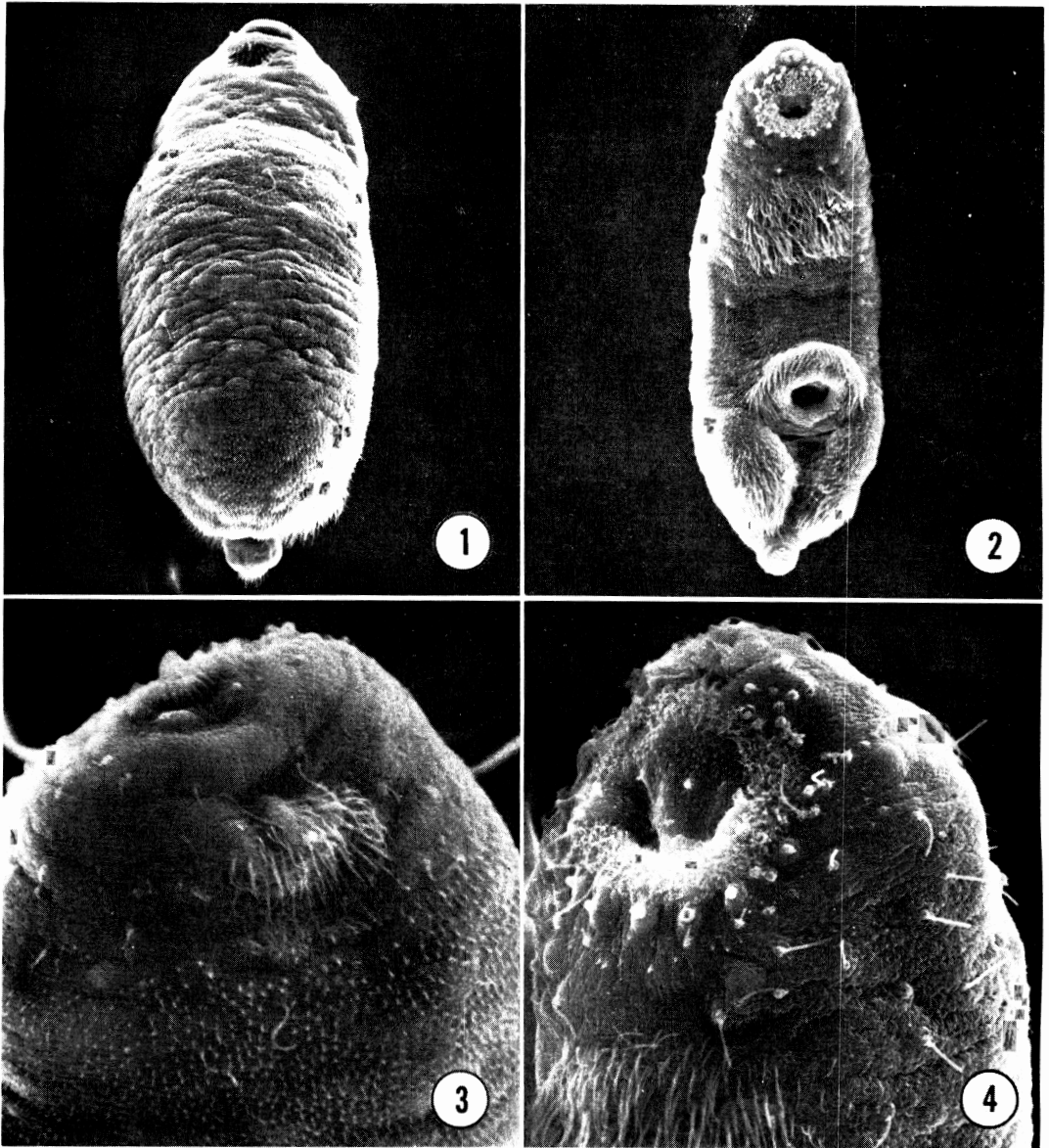
COMPARATIVE STUDIES ON SURFACE ULTRASTRUCTURE
OF *PARAGONIMUS* CERCARIAE

HIROO HIGO AND YOICHI ISHII

(*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*)

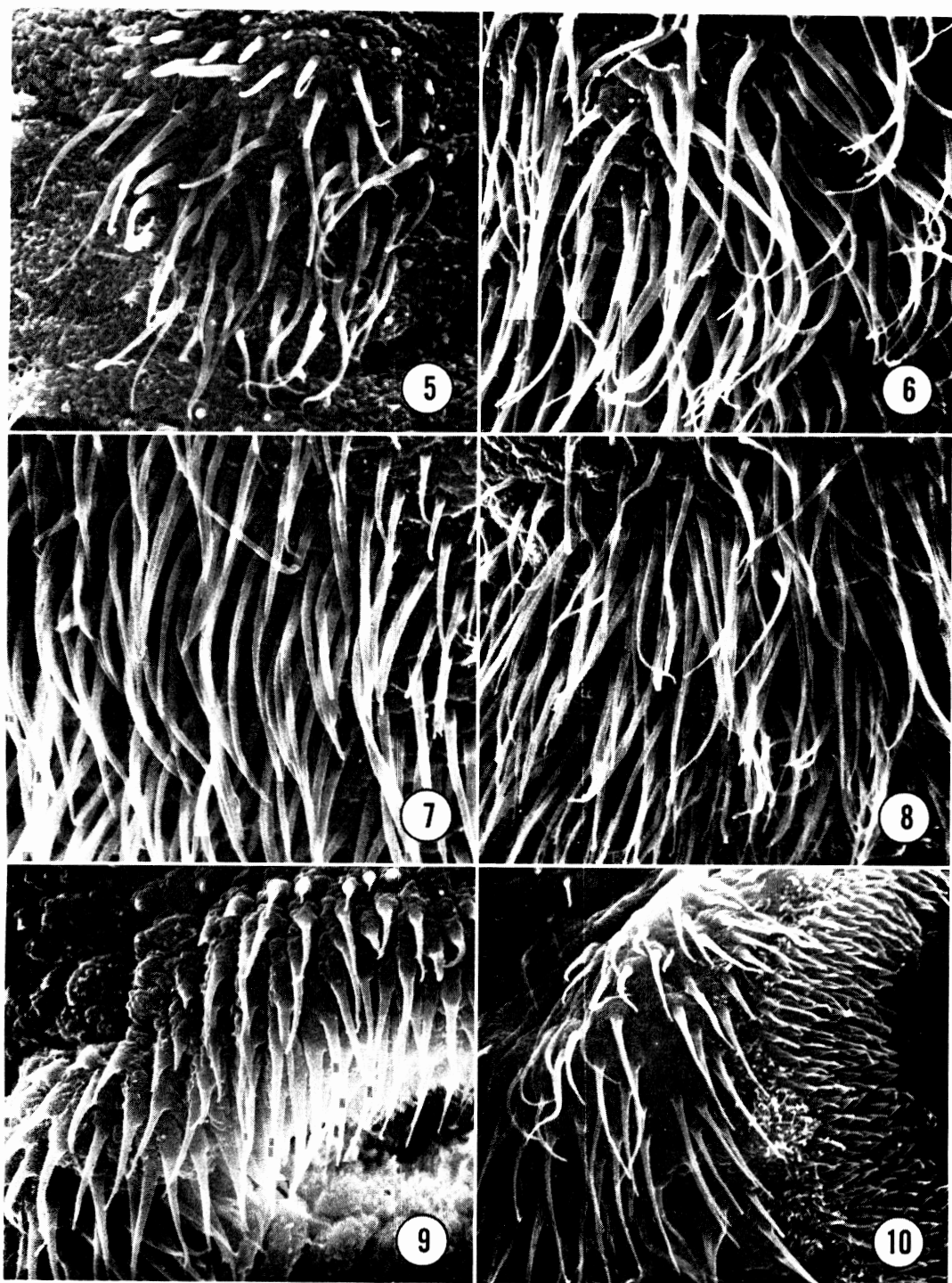
Cercariae of *Paragonimus ohirai*, *P. iloktsuenensis* and *P. miyazakii* were studied by scanning electron microscopy (SEM) to differentiate the spine structures among three species and *P. westermani* described by Higo *et al.* (1980).

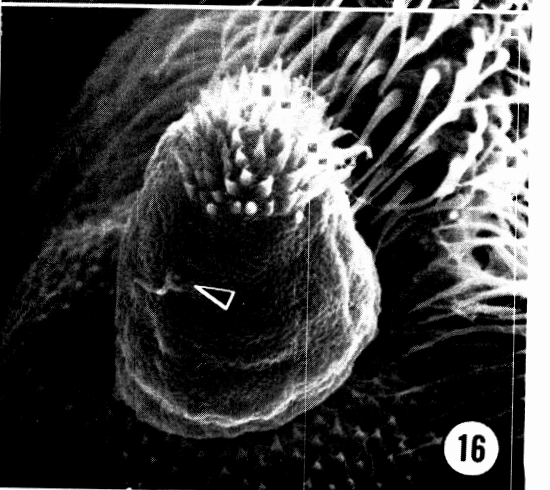
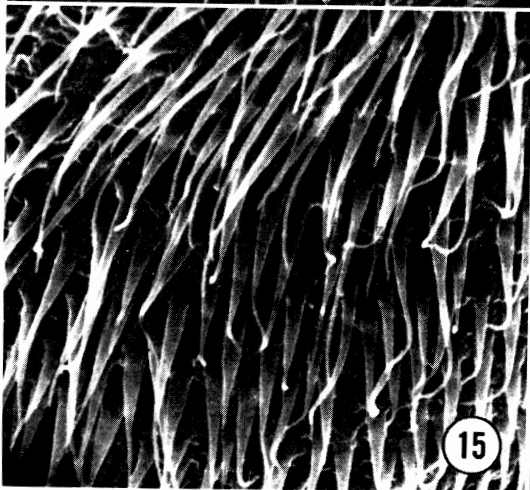
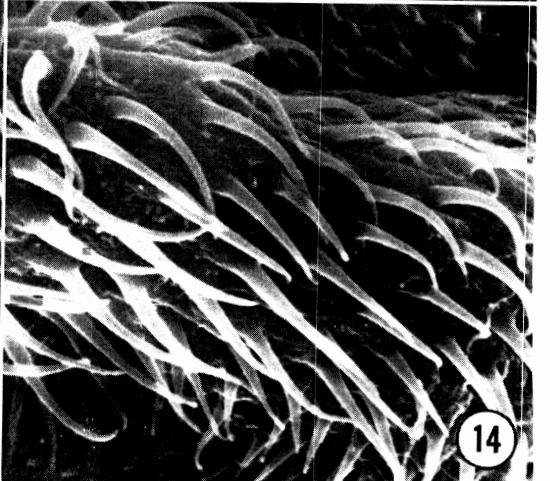
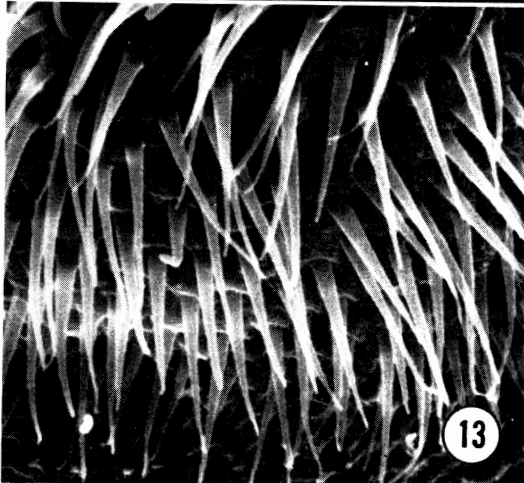
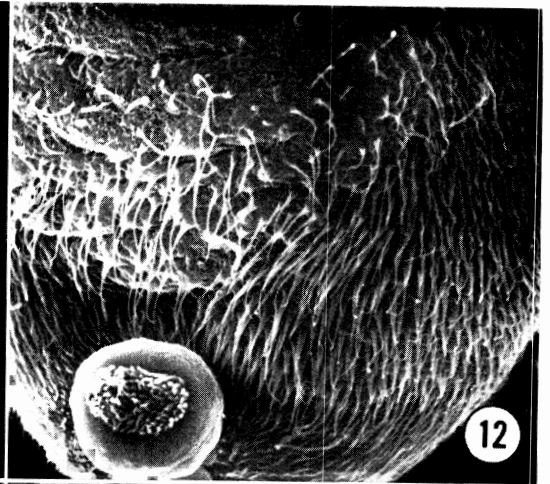
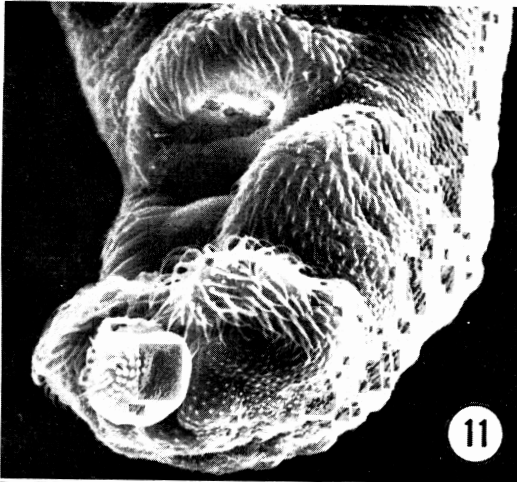
Paragonimus cercariae are covered with two types of spines, large-sized ones of over $2\mu\text{m}$ in length and small ones less than $1\mu\text{m}$. The former are present in the anterodorsal extremity, the posterior region of oral sucker, the surrounding of ventral sucker, the posteroventral extremity and the tip of tail. Large ones at the posteroventral extremity vary in size and shape, among the four species. The size of the spines of *P. ohirai* and *P. iloktsuenensis* is larger than *P. westermani*, and the former shape is like a thick thorn, while the latter is slenderer except at the base. The spines of *P. miyazakii* in the posteroventral extremity show middle characteristics between these two groups. Except for these large-sized spines, there are few differences in spine structures among the four species. Sensory papillae are arranged symmetrically and more frequently observed around the oral sucker. However, because of individual variations, it is difficult to determine the pattern of the distribution of these papillae by SEM.

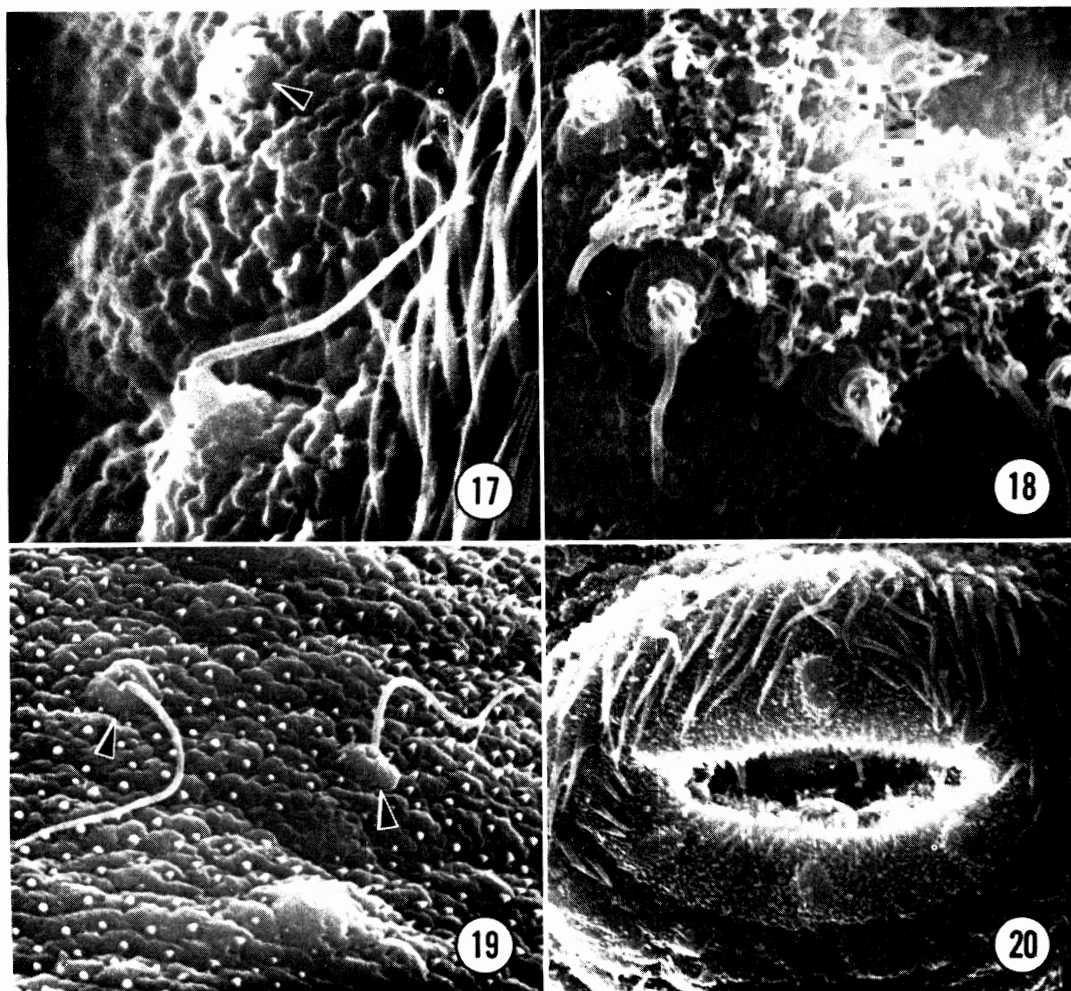


Figs. 1-4 SEM micrographs of the whole body and the anterior regions. 1. P. o: dorsal view of the whole body. $\times 720$. 2. P. o: ventral view of the whole body. $\times 800$. 3. P. m: dorsolateral surface of the anterior region. $\times 2,250$. 4. P. m: ventrolateral surface of the anterior region. $\times 1,990$.

Figs. 5-10 SEM micrographs of long spines. 5. P. o: long spines at the anterior end of the dorsal surface. $\times 3,000$. 6. P. o: long spines in the posterior region of the oral sucker. $\times 4,500$. 7. P. i: same position as Fig. 6. $\times 4,500$. 8. P. m: same position as Fig. 6. $\times 4,500$. 9. P. o: long spines around the ventral sucker. $\times 4,000$. 10. P. m: same position as Fig. 9. $\times 4,000$.







Figs. 11-16 SEM micrographs of long spines. 11. P. m: posteroventral region with long spines. $\times 1,880$. 12. P. i: same position as Fig. 11. $\times 1,200$. 13. P. m: long spines at the posteroventral region. $\times 5,250$. 14. P. i: same position as Fig. 13. $\times 5,630$. 15. P. o: same position as Fig. 13. $\times 5,250$. 16. P. o: dorsolateral view of tail. $\times 3,750$. A ciliated papilla is seen in the dorsal surface of the tail. (Arrow).

Figs. 17-20 SEM micrographs of papillae. 17. P. o: ciliated papillae with collars and swellings of tegument. $\times 8,500$. One has a short cilium. (Arrow). 18. P. i: ciliated papillae around the oral sucker. $\times 7,500$. Some tubercles surround the cilium and many are around the oral sucker. 19. P. o: ciliated papillae without collar (arrow) in the anterodorsal region. $\times 4,500$. 20. P. i: six domed papillae around the ventral sucker. $\times 4,500$.

Abbreviations

P. o: *Paragonimus ohirai*. P. i: *Paragonimus iloktsuenensis*. P. m: *Paragonimus miyazakii*.